# Über die Structur des ruhenden Zellkernes

von

Dr. **Fridolin Krasser.**

Aus dem pflanzenphysiologischen Institute der k. k. Wiener Universität.

In der jüngsten Zeit ist das Studium der Zellkernstructur, namentlich durch die Arbeiten von Zoologen, wieder in den Vordergrund des Interesses getreten, und auch auf Seite der Botaniker war man bemüht, die »wahre Structur« desselben zu ermitteln.

In letzterer Beziehung muss besonders an die Bestrebungen V. Fayod's erinnert werden. Der genannte Autor wandte sich zunächst mit der Darlegung seiner Forschungsergebnisse in dem Aufsatze: »Über die wahre Structur, des lebendigen Protoplasmas und der Zellmembran«[1] an einen weiteren Leserkreis, dann publicirte er 1891 seine Abhandlung »Structure du protoplasme vivant«[2]. In der letztgenannten Schrift werden auch die Methoden zur Darstellung der vom Verfasser dem lebenden Protoplasma zugeschriebenen Structuren in ausführlicherer Weise dargelegt.

Bezüglich des Zellkernes kommt Fayod zu dem Schlusse, dass er nichts anderes sei als ein Geflecht von »Spirosparten».[3]

Nach Fayod ist nämlich ein jedes Protoplasma aus feinen, meist dicht spiralig eingerollten Hohlfäden (Spirofibrillen), einer hyalinen, unfärbbaren, ziemlich zähgelatinösen Substanz von hoher Quellbarkeit zusammengesetzt. Diese Hohlfäden (Spiro-

---

[1] Naturw. Rundschau. V. Jahrg., Nr. 7.

[2] Revue générale de Botanique. III. Bd. (1891), p. 193—228,

[3] Vergl. Fayod's Auseinandersetzungen in Revue gén. bot. p. 205/6 und p. 226/27.

fibrillen) stehen selten einzeln, sondern sind meist gemeinschaftlich zu mehreren derart gedreht, dass sie die Wandungen von wiederum spiralig gedrehten Hohlschnüren (Spirosparten) bilden. In den Hohlräumen der Spirofibrillen und Spirosparten befindet sich »Körnerplasma«.

Fayod gelangte zu seinen Anschauungen zumeist durch Injectionspräparate, die derart hergestellt wurden, dass die Versuchsobjecte (Blattstiele, Blüthenschäfte, kleine Zweige etc.) am unteren Ende einer 1—2 *m* langen Röhre in geeigneter Weise befestigt, so lange dem Drucke einer bis 2 *m* langen Quecksilbersäule ausgesetzt wurden, bis sie durch das eingedrungene Metall steif und undurchsichtig geworden. Dickere Schnitte, unverletzte Zellen enthaltend, wurden dann in verschiedenen Medien (0,75—5 % NaCl, alkoholisches Bleiacetat etc.) untersucht. Auch Farbstoffe von schlammartiger Consistenz (Indigo und Carmin) wurden injicirt.

Ich habe wiederholt Präparate nach verschiedenen der von Fayod angegebenen Methoden hergestellt und konnte mich so von dem Vorhandensein der von ihm angegebenen Structurverhältnisse überzeugen. Leider sind die Präparate nach Fayod'scher Methode zur eingehenden mikroskopischen Untersuchung nicht geeignet, und es will mich bedünken, als sei der genannte Autor doch etwas zu weit in der Deutung der Bilder gegangen. Was ich gesehen habe, entspricht vollkommen seinen Abbildungen auf Taf. 14 (Revue gén. l. c.), d. h., ich konnte auf längere oder kürzere Strecken isolirte oder durcheinander gewundene, schraubige Quecksilber- oder Farbstofffäden im Object (Blattepidermis von *Fritillaria imp.*) beobachten. Zu Ableitung eines Schemas des Zellenbaues, wie l. c. Fig. 7., könnte ich mich aber nicht entschliessen, und insbesondere muss ich Bedenken tragen die Fayod'sche Auffassung des Zellkernes als eines Spirospartengeflechtes zu theilen. Ich kann nur zugeben, dass der Zellkern in einer von Spirosparten gebildeten Masche eingebettet liege. [1]

[1] Der Werth der Fayod'schen Untersuchungen dürfte in der Anregung zu Injectionsversuchen beim Pflanzenorganismus liegen. Billigerweise wird man auch zugeben, dass Fayod durch die Quecksilberinjection auf ein bisher

Aber nicht allein die von Fayod vertretenen Anschauungen differiren von dem in Geltung stehenden Schema der Structur des ruhenden Zellkernes, es sind in letzteren Jahren auch von anderen Forschern, wie Altmann, Auerbach, Bütschli, Lukjanow, allerdings fast durchaus auf die Befunde bei thierischen Kernen gestützt, Structurverhältnisse des Zellkernes bekannt gemacht worden, welche gleichfalls mit den üblichen Anschauungen nicht in Einklang stehen. Eine erneute Untersuchung des ruhenden Zellkernes, welche in erster Linie auf dessen Structurverhältnisse gerichtet ist, dürfte also nicht ganz unzeitgemäss sein.

Es scheint mir geboten zunächst das von den meisten Botanikern angenommene Schema der Structur des ruhenden Zellkernes in ausführlicherer Weise darzulegen, darnach auf die Fehlerquellen hinzuweisen, welche in den üblichen, zur Sichtbarmachung der Kernstructur angewandten Methoden liegen. Hierauf soll im Anschlusse an die Besprechung einiger neuerer Arbeiten eine Reihe eigener Beobachtungen über den ruhenden Zellkern mitgetheilt, zum Schlusse dann eine Übersicht über die gewonnenen Ergebnisse gegeben werden.

Am ruhenden Zellkerne pflegt man, insbesondere auf Grund der Untersuchungen von Flemming, Strasburger, Schmitz, Guignard u. A., abgesehen von den Einschlüssen (Proteinkrystalloide), das Kerngerüst, die Kernkörperchen (Nucleoli), den Kernsaft und die Kernmembran zu unterscheiden. [1]

Bekanntlich erscheint der Zellkern im Allgemeinen mehr oder minder scharf gegen das Cytoplasma abgegrenzt. Das Vorhandensein einer eigenen Membran (Kernmembran) wurde

---

unbekanntes Structurverhältniss, d. i. die Existenz von Hohlfäden im Protoplasma zuerst die Aufmerksamkeit lenkte.

[1] Vergl. Zimmermann, Die Morphologie und Physiologie der Pflanzenzelle, Breslau 1887, S. 28—32; ferner Strasburger, Über Kern- und Zelltheilung im Pflanzenreich (Histolog. Beitr., Heft I), Jena 1888, S. 27—34. Den Ausdruck »ruhenden Zellkern« gebrauche ich in demselben Sinne wie Strasburger, also nur im Gegensatze zu dem sich theilenden Kern. Dass auch der ruhende Kern ganz bestimmte physiologische Functionen besitzt, begegnet wohl überhaupt keiner Widerrede mehr.

für einzelne Fälle mit vollster Sicherheit constatirt, darüber aber, ob dieselbe morphologisch dem Kerne oder dem Cytoplasma angehören, herrscht Unsicherheit. Strasburger[1] und Guignard[2] lassen sie aus dem Cytoplasma hervorgehen. Während jedoch der letztgenannte Forscher sie für eine wirkliche Membran hält, misst ihr Strasburgsr bloss die Natur einer Hautschichte bei, »mit der sich das umgebende Cytoplasma gegen die Kernhöhle abgrenzt«. Allerdings gibt auch er (l. c. S. 31) zu, »dass die Kernwandung immerhin eine gewisse Selbstständigkeit und Eigenart dem übrigen Cytoplasma gegenüber zukommt«. Bekannt ist das Verhalten der Kernmembran gegen Farbstoffe. Es hat, wie ich glaube, Flemming[3] zuerst darauf hingewiesen, dass sie von den »Kernfärbemitteln im eigentlichen Wortsinne« nicht tingirt wird. In verschiedenen chemischen Reactionen stimmt die Kernmembran mit der Substanz der Kernkörperchen überein. Von Frank Schwarz[4] wurde letztere als Pyrenin, erstere als Amphipyrenin bezeichnet. Chemisch ist also die Kernmembran jedenfalls von dem Cytoplasma verschieden.

Bezüglich der feineren Structur der Kernwand liegt nur eine Angabe von Schmitz[5] vor, des Inhaltes, dass bei den Zellkernen der Thallophyten, durch Anhäufung kleiner Körnchen zu einer peripherischen Schicht, eine »sogenannte Kernwandung« gebildet werden kann.

Die Kernhöhle ist erfüllt von dem »Kernsaft«, welcher selbst an stark überfärbten Präparaten structurlos[6] erscheint. In diesen eingebettet erscheint ein Gerüstwerk von in der Regel leicht tingirbarer Substanz. Im lebenden Kerne ist dasselbe nur

---

1 Strasburger, l. c. S. 30.

2 Guignard, Nouvelles recherches sur le noyau cellulaire. Ann. d. sc. nat. Bot. T. XX, p. 631.

3 Flemming, Zellsubstanz, Kern und Kerntheilung. Leipzig 1882, S. 169, Anm. 2.

4 Schwarz, Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas. Cohn's Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Bd. V, Heft 1, S. 78.

5 Fr. Schmitz, Untersuchungen über die Zellkerne der Thallophyten. Sitzungsber. d. niederrh. Ges. f. Nat. und Heilk. Bonn 1880.

6 Strasburger, l. c S. 29.

in seltenen[1] Fällen direct sichtbar, es tritt vielmehr meist erst nach bestimmten Präparationsmethoden in Erscheinung; über seine Beschaffenheit sind aber die Ansichten[2] getheilt. So hält Zimmermann[3] daran fest, dass im ruhenden Zellkern in den meisten Fällen ein »wahres Netzwerk« vorhanden sei. Strasburger jedoch hält neuerdings[2] dafür, dass entweder einer oder mehrere Kernfäden das Gerüstwerk des ruhenden Zellkernes zusammensetzen.

Seitliche Brücken existiren nach den Untersuchungen des letztgenannten Forschers zwischen den Fäden des Gerüstwerkes nicht. Bezüglich der feineren Structurverhältnisse des Kerngerüstes wurde von verschiedenen Autoren (Guignard, Heuser, Strasburger) festgestellt, dass sich seine Fäden aus einer nicht tinctionsfähigen Grundsubstanz (Hyaloplasma Strasburger) und in diese eingebettete, verschieden grosse Kugeln und Körnchen einer stark tingirbaren Substanz (Chromatinkugeln Pfitzner's) zusammensetzen. Nach Frank Schwarz's[4] (l. c.) chemischer Charakteristik des Zellkernes bestehen die Chromatinkugeln aus dem Chromatin,[5] die farblose Gerüstsubstanz (Fibrillen) aus Linin. Dem letzteren steht chemisch der »Kernsaft« mindestens sehr nahe, und es weist daher Frank Schwarz (l. c. S. 79) mit Recht darauf hin, dass der letztere bei der Ähnlichkeit der chemischen Eigenschaften nicht als Flüssigkeit aufgefasst werden darf. Ich habe bereits oben bemerkt, dass der Kernsaft für structurlos[6] gilt. Bei

---

[1] Es sei hier z. B. an die Zellkerne von *Sanseviera carnea* erinnert, auf welche Frommann, Jenaische Zeitschr. f. Naturw., XVI. Bd., 1883, aufmerksam machte.

[2] Strasburger l. c. S. 29.

[3] Zimmermann l. c. S. 28.

[4] Schwarz l. c. S. 78.

[5] Es dürfte hier der Ort sein darauf hinzuweisen, dass es wesentlich ein Verdienst E. Zacharias (Über die chem. Beschaffenheit des Zellkernes, Bot. Z. 1881) ist, das Vorkommen von Nuclein in der Gerüstsubstanz nachgewiesen zu haben.

[6] Das von Carnoy, La Biologie cellulaire, Lierre 1884, p. 239, angegebene protoplasmatische Netzwerk erklärt Zimmermann, l. c. S. 31, für ein Artefact (Gerinnungsproduct).

manchen Kernen tritt er ganz zurück, in jenen Fällen nämlich, wo ein sehr engmaschiges Kerngerüst vorliegt.

Nur durch wenige Farbstoffe, insbesondere Haematoxylin, ist er, und zwar nur im geringen Grade, tingirbar, bei Anwendung der specifischen Kerngerüstfarbstoffe, wie Safranin und Gentianaviolett, bleibt er gänzlich ungefärbt.

Schliesslich wäre noch der Nucleolus, der ja ziemlich allgemein als ein »besonderes Organ«[1] im Zellkerne angesehen wird, zu besprechen. Den Einzelfall *Spirogyra*[2] ausgenommen, wird dem Nucleolus keine Structur zugeschrieben, da die älteren Angaben über Körnchen und Netzstructur des Nucleolus, wie sie von Schmitz[3] und Frommann[4] vorliegen, auf die Autorität Flemming's hin, als nicht zuverlässig betrachtet werden. Nur das Vorhandensein von lebenden Vacuolen wird in bestimmten Fällen allseits zugegeben. Da im Zellkern ein bis mehrere[5] Kernkörperchen (Nucleoli) vorkommen können, so ist namentlich am lebenden Kerne in jenen Fällen, wo gleichzeitig grosse Chromatinkörnchen vorhanden sind, die Unterscheidung der beiden Elemente manchmal fast unmöglich. Unterschiede lassen sich jedoch, ganz abgesehen von dem Verhalten des Nucleolus bei der Kerntheilung, durch Tinctionsmethoden feststellen. So hat schon Guignard[6] (1885) zu diesem speciellen Zwecke eine Methode der Doppelfärbung ausgearbeitet. Er verwendete besonders im Gemisch von

---

[1] Zimmermann l. c. S. 30.

[2] Der Nucleolus von *Spirogyra* zeigt bekanntlich die Erscheinungen der Karyokinese, stellt also in dieser Beziehung gewissermassen einen Kern im Kern dar. Meunier, Le nucléole des *Spirogyra*. La Cellule, t. III, 3. fasc. (Louvain, Gand, Lierre, 1887.)

[3] Fr. Schmitz, Über die Structur des Protoplasma und der Zellkerne der Pflanzenzellen. Verh. d. naturh. Ver. d. preuss. Rheinl. und Westph. 1880.

[4] Frommann, Beobachtungen über Structur und Bewegungserscheinungen des Protoplasma der Pflanzenzellen. Jena 1880.

[5] Die Frage, ob jeder Zellkern den Nucleolus besitze, lasse ich absichtlich unerörtert. Übrigens ist es nach Köppen's oben citirter Untersuchung wohl als erwiesen anzunehmen, dass die Kerne der stärkeführenden Zellen eines reifen Samens keinen Nucleolus besitzen.

[6] Guignard, Recherches sur le noyau cellulaire. Ann. sc. nat. Bot. 6. Ser., T. XX. Paly 1885, p. 318.

Methylgrün- und Fuchsinlösungen, wodurch die Nucleolen roth, die Chromatinkörnchen aber grün gefärbt wurden. Späterhin (1887) hat O. W. Köppen,[1] in der wässerigen Lösung von Methylenblau, eine Tinctionsflüssigkeit erkannt, welche speciell vom Nucleolus in besonderem Masse gespeichert wird.[2] Um den Nucleolus findet sich in Dauer-Präparaten, aber auch am lebenden Objecte (z. B. *Datura*) ein »Hof«, sehr häufig allerdings erst durch die Präparationsweise entstanden oder doch vergrössert. Schliesslich ist noch darauf hinzuweisen, dass der Nucleolus in allen untersuchten Fällen sich chemisch different vom Chromatin erwies. Namentlich E. Zacharias[3] hat den Nucleolus genauer auf mikrochemischem Wege untersucht und unter den Botanikern zuerst die stoffliche Verschiedenheit des Nucleolus von den nucleinführenden Elementen des Zellkernes erkannt. Die späteren Untersuchungen von Frank Schwarz[4] haben dann das Ergebniss geliefert, dass die Substanz (»Pyrenin«) der Kernkörperchen, der Substanz der Kernmembran (»Amphipyrenin«) chemisch sehr nahe steht, und dass beide häufig dem Chromatin gerade entgegengesetzte Reactionen aufweisen.

Überblicken wir nun das eben entworfene Schema beim ruhenden Zellkern, so finden wir, dass nach der herrschenden Meinung der ruhende »Kernsaft« und Nucleolus structurlos sind, und dass ferner die Existenz von Structur der Kernmembran geleugnet wird.

Die geltenden Verstellungen über den Bau des Zellkernes wurden fast ausschliesslich durch die Beobachtung fixirter und tingirter Objecte gewonnen, und nur in geringem

---

1 O. W. Köppen, Über das Verhalten des Zellkernes im ruhenden Samen. Diss. Jena 1887.

2 Nicht unerwähnt will ich lassen, dass in bestimmten Fällen der Nucleolus auch mit Zellkern-Krystalloiden verwechselt werden kann. In letzterer Beziehung hat aber bereits Zimmermann, Beitr. zur Morph. u. Physiologie der Pflanzenzelle, Heft II (Tübingen 1891), S. 120, die Mittel zur Unterscheidung erkannt, indem er auf eine Doppelfärbung mit Hämatoxylin und Säurefuchsin verweist; die Krystalloide werden dabei roth tingirt.

3 Zacharias, »Über die chem. Beschaffenheit des Zellkernes«. Bot. Ztg. 1881 und »Über den Nucleolus«. Bot. Ztg. 1885.

4 Frank Schwarz l. c. S. 78.

Masse wurden lebende Objecte zum Vergleiche herangezogen.

In der vorliegenden Abhandlung wird unter Anderem dargelegt, dass das Structurelement des ruhenden Zellkernes körniger Natur sei. Es ist also gerade dieses Umstandes halber nothwendig, die Methoden, welche man gemeiniglich zur Fixation, womit man ja die Erhaltung der präexistirenden Structur beabsichtigt, zu besprechen, zumal die Art und Weise ihrer Einwirkung auf Lösungen eiweissartiger Körper zu erörtern; denn nur in dem Falle als nachgewiesen wird, dass nicht Artefacte, durch die Reagentienwirkung hervorgerufen, vorliegen, können Körnchen als präexistirendes Structurelement des lebenden ruhenden Zellkernes angenommen werden.

Es hat bereits Frank Schwarz[1] Fällungserscheinungen und künstliche Structuren an Substanzen ähnlicher Consistenz wie das Cytoplasma, und zwar mit Rücksicht auf die dem letzteren zugeschriebenen Structurverhältnisse studirt.

So constatirte der genannte Forscher, dass in verdünnten wässerigen Eiweiss- und Peptonlösungen sowohl durch Alkohol, als Flemming'sche Mischung oder Pikrinsäure ein sehr feinkörniger Niederschlag entsteht. Aus dieser Beobachtung Frank Schwarz[2] ergibt sich, dass Structurverhältnisse, wenn sie auch in gleicher Weise sogar auf die Einwirkung chemisch differenter Reagentien hin zur Anschauung gebracht werden können, dennoch nicht ursprünglich sein müssen. Es muss also die Beobachtung des lebenden Objectes zur Correction der Fixirungs- und Tinctionspräparate herangezogen werden. Nun pflegt man aber in der Regel das lebende Object in irgend einem Medium zu untersuchen, z. B. in Wasser, 1% Zuckerlösung, Weingeist. Dadurch können aber wieder Veränderungen herbeigeführt werden. Die Untersuchung in Weingeist führt die Gelegenheit zu Fällungen herbei, und auch Wasser ist keineswegs indifferent. Es hat in letzterer Beziehung insbesondere Mikosch gelegentlich seiner Chlorophyllstudien Mittheilun-

[1] Frank Schwarz, Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas. Cohn's Beitr. zur Biologie der Pflanzen. V. Bd. 1. Heft. Breslau 1887. S. 140 ff.

[2] Frank Schwarz l. c. S. 143.

gen gemacht, und auch bei L. Auerbach (Organologische Studien. Bd. I, 1874, S. 19), sowie bei Frank Schwarz (l. c. §. 18, S. 87) finden sich Angaben darüber. Letzterer gibt für die pflanzlichen Zellkerne an, dass sie sich bei Zutritt von Wasser nicht alle gleich verhalten, dass entweder vollständige und partielle Lösung eintreten kann, oder dass sie unlöslich sind. Bei der Einwirkung von siedendem Wasser bleiben alle Zellkerne vollständig erhalten, aber meist unter Zerstörung der feineren Structur.

Um also möglichst sicher zu gehen, bleibt wohl nichts anderes übrig, als geeignete Objecte vor allem im lebenden Zustande und ohne Beobachtungsflüssigkeit zu untersuchen. Die Menge des untersuchten Materiales muss dann die durch die unvermeidliche Austrocknung des Objectes bedingte Kürze der Beobachtungszeit der einzelnen Präparate ersetzen. Dies Verfahren ist unleugbar sehr unbequem, aber es führt wenigstens leidlich zu dem angestrebten Ziele, ursprüngliche Structurverhältnisse zur Beobachtung zu bekommen.

Zu Beobachtungen über die Structurverhältnisse des ruhenden Zellkernes müssen im Sinne der obigen Ausführungen also entweder Hautgewebe, Haare oder dickere Schnitte mit unverletzten Zellen gewählt werden. Ist man einmal orientirt über die sich darbietenden Verhältnisse, dann wird man untersuchen, ob und inwieweit durch die gebräuchlichen Beobachtungsmedien und Fixirungsmethoden die beobachteten Structurverhältnisse geändert werden. Ich habe mich überzeugt, dass in den von mir untersuchten Fällen — sie werden im Folgenden angeführt — bei vorsichtiger Fixirung mit Alkohol, Pikrinsäure und Flemming'schem Gemisch die Kernstructur nicht wesentlich geändert wird.

Als Beobachtungsflüssigkeit für das lebende Object konnten bei kürzerer Beobachtungsdauer 1% Zuckerlösung, Wasser, Alkohol von circa 80% ohne Schädigung des Objectes verwendet werden. Zu demselben Zwecke konnte mit Vortheil auch eine 1% Lösung von Salicylaldehyd [1] in etwa 75—80% Alkohol dienen.

---

[1] Der Salicylaldehyd $C_6H_4\langle{}^{OH}_{COH}$, auch salicylige Säure genannt, ist bekanntlich eine aromatische, in Wasser in geringem Grade lösliche Flüssig-

Sind am lebenden Object bestimmte Structuren festgestellt, dann müssen wohl zum näheren Studium derselben die Fixations- und Tinctionsmethoden angewendet werden. Selbstverständlich können aber auch die Entwicklungsgeschichte des zu studirenden Organes (in unserem Falle der Zellkern) und die morphologischen Veränderungen desselben beim Absterben Anhaltspunkte für die Erkenntniss seiner Structur liefern.

Ehe ich zur Mittheilung meiner Beobachtungen über die Structur und die chromatischen Verhältnisse des ruhenden Zellkernes schreiten kann, muss ich noch eine Reihe von fast durchaus zoologischen Arbeiten besprechen, welche mit meinem Thema in Beziehung stehen.

Die Anregung zu erneuter Untersuchung der Structurverhältnisse des Zellkernes ist insbesondere von Richard Altmann [1] ausgegangen, der auf Grund einer bisher noch immer nicht genauer bekanntgegebenen Methode (»modificirte Fixirung durch Osmium« und »nachfolgende Färbung mit Cyanin«) erkannte, dass der Inhalt des Kernes eine multiple Zusammensetzung aus vielen kleinsten Elementen habe, d. h. der Kern erschien »als ein dichter Haufen violett gefärbter Körnchen«, während die übrigen Zellenbestandtheile farblos oder schwach gefärbt blieben«. Mit Hilfe der gewöhnlichen Kernfärbungen

---

keit. Wenigstens in Form dieser Anmerkung möchte ich mittheilen, dass Salicylaldehyd auch die Chromatophoren gut conservirt. Legt man z. B. grössere Stücke der Früchte von *Solanum Lycopersicum* in 1$^0/_0$ Salicylaldehyd-Alkohol, so sind dieselben nach einigen Tagen in vorzüglicher Weise gehärtet und lassen sich sehr gut schneiden. Als Beobachtungsflüssigkeit für die Schnitte kann nun Alkohol, Wasser oder verdünntes Glycerin angewendet werden. In den Zellen findet man nicht nur Protoplasma und Zellkern, sondern auch die Farbstoffkörper unverändert, wie an Schnitten durch das frische Material. Es hat übrigens schon Mikosch (in der gemeinschaftlich mit C. Reichl herausgegebenen Programmarbeit: »Über Eiweissreactionen und deren mikrochemische Anwendung«. Wien 1890.) gelegentlich der Discussion der mikrochemischen Anwendbarkeit der Reichl'schen Eiweissreactionen (l. c. S. 35) auf die Protoplasmastructuren conservirende Eigenschaft der Salicylaldehyd-Eiweissreaction Reichl's aufmerksam gemacht.

[1] Altmann, Die Structur des Zellkernes. Archiv f. Anat. u. Phys. von His, Braune und Du Boi-Reymond. Anat. Abtheilung, Jahrgang 1889. S. 409—11.

erkannte Altmann an denselben Präparaten »ein gröberes Netz den Raum des Kernes durchsetzen, welches dem Kernnetz der Autoren entsprechen dürfte, sieht aber dann dasselbe in ein noch feineres Maschenwerk übergehen, dessen kleine Lücken oft in Form und Grösse recht regelmässig und abgerundet sind; es erscheint kaum zweifelhaft, dass es sich hier um den negativen Abdruck der eigentlichen Körnerstructur des Kernes handelt«. Für den Nucleolus findet derselbe Autor als charakteristisch, dass er in einer oft sichtlich stärkeren Anhäufung der Intergranularsubstanz des Kernes eingebettet liegt, und dass erst von dieser Anhäufung die Netzbildung der Intergranularsubstanz ausgeht; Letztere wird durch die gebräuchlicheren Kernfärbungsmittel gefärbt. Vor Altmann hat schon S. M. Lukjanow[1], jedoch ohne die Resultate seiner Beobachtungen zu verallgemeinern für die Epithel- und Muskelkerne des Salamanders und für die Epithelkerne der Ascariden das fundamentale Structurelement des Kernes in Achromatinkörnchen gesucht. Ähnlichen Ansichten hat vor zwei Jahren auch Auerbach[2] Ausdruck gegeben. Er untersuchte fast alle Arten von Zellkernen im Körper der Amphibien, Urodelen, wie Anuren, im erwachsenen und im Larvenzustande. Nach Auerbach ist der Zellkern aus einer grossen Zahl von Körnchen zusammengesetzt, welche sich bei Doppelfärbung gegen die Farbstoffe verschieden verhalten. Diese Körnchen liefern das Material zur Bildung intranucleärer Netze. Dasjenige, was bei einfacher Tinction farblos oder doch nur sehr schwach gefärbt erscheint und deshalb ganz oder doch seiner Hauptmasse nach als Achromatin imponirt, erweist sich bei Anwendung von Doppelfärbungen doch als chromatische Substanz. Lässt man nämlich auf die gehärteten Objecte Farbstoffgemische, in welchen je ein Farbstoff aus den beiden folgenden Reihen ent-

---

[1] S. M. Lukjanow, Beiträge zur Morphologie der Zelle. I. Abth. Arch. von Du Bois-Reymond 1887; II. Abth. Arch. f. mikr. Anat. 1888. — Notizen über das Darmepithel bei *Ascaris mystax*. Arch. f. mikr. Anat. 1888.

[2] Leop. Auerbach, Zur Kenntniss der thierischen Zellen. I. Mitth. Über zweierlei chromatophile Kernsubstanzen«. Sitzungsber. d. königl. preuss. Akad. d. Wissensch. zu Berlin. 1890 (Juni).

halten ist, so findet man dann den Kern aus rein rothen und rein blauen Theilen zusammengesetzt.

Farbstoffreihen (nach Auerbach):

Roth, beziehungsweise rothgelb:

Eosin, Fuchsin, Auratia, Carmin, Pikrocarmin;

Blau, beziehungsweise Grün:

Methylgrün, Anilinblau, Hämatoxylin.

Die Technik der Doppelfärbung betreffend bemerkt Auerbach, dass letztere entweder durch ein Farbstoffgemisch oder durch folgeweise Anwendung der entsprechenden Farbstofflösungen zu bewerkstelligen sei. Als für manche Fälle geeignet empfiehlt der genannte Forscher das »Ehrlich-Biondi'sche Gemisch«. Nach dem Tinctionsergebniss der Doppelfärbung unterscheidet Auerbach erythrophile und cyanophile Kernsubstanz, erythrophile und cyanophile Kerne. In letzterer Hinsicht ist von höchstem Interesse, dass nach desselben Verfassers Untersuchungen [1] die männlichen Sexualzellen der Vertebraten den blauen, die weiblichen den rothen Farbstoff bevorzugen.

Auf botanischem Gebiete hat erst die Literatur der letztverflossenen Wochen zwei kurze Mittheilungen über die Einwirkung von Doppelfärbungen auf den pflanzlichen Zellkern gebracht. Zunächst veröffentlichte Paul Schottländer [2] eine vorläufige Mittheilung »Zur Histologie der Sexualzellen bei Kryptogamen«. Er fand bei *Gymnogramme chrysophylla* und *Aneura pinguis* den wesentlichen Bestandtheil der Spermatozoen »kyanophil«, der Eikern von *Gymnogramme* (*Aneura* konnte diesbezüglich nicht untersucht werden) erwies sich als erythrophil. Schottländer arbeitete nach der erst zu publicirenden Tinctionsmethode von Rosen.

---

[1] Leopold Auerbach, Über einen sexuellen Gegensatz in der Chromatophilie der Keimsubstanzen etc. Sitzungsberichte der königlich preussischen Akademie der Wissenschaften zu Berlin 1891. XXXV. Sitzung vom 25. Juni.

[2] Schottländer, Berichte d. deutsch. botan. Ges. X. Jahrg. 1892. Heft 1. Ausgegeben am 25. Februar.

Einem im Botan. Centralblatt 1892, Nr. 14 [1], veröffentlichten Sitzungsberichte der botanischen Section der »schlesischen Gesellschaft für vaterländische Cultur« ist zu entnehmen, dass Rosen [2] die chromatischen Eigenschaften der Nucleolen und Sexualzellkerne bei den Liliaceen studirte. Rosen [3] fand im ruhenden Zellkern von *Scilla Sibirica* bei Doppelfärbungen — die Tinctions-Methoden werden nicht mitgetheilt — »erythrophile« und »kyanophile« Nucleolen, das chromatische Gerüstwerk erwies sich als cyanophil. Bei Karyokinesen waren die chromatischen Elemente (Kernfaden und dessen Segmente) cyanophil, Nucleolen, Spindel- und Verbindungsfäden, sowie die Zellplatte erythrophil. Im Pollenkorn von *Hyacinthus orientalis* war der generative Kern cyanophil, der vegetative Kern aber erythrophil. Erythrophil sind auch der Eikern und sämmtliche Kerne des Embryosackes. Als erythrophil erweist sich schon der Kern der »Embryosackmutterzellen« (*Tulipa*), der generative Kern des Pollkernes aber wird erst kurz vor der Reife desselben cyanophil.

Ich befinde mich in der angenehmen Lage, die Untersuchungsergebnisse Schottländer's und Rosen's durch unabhängig von den genannten Autoren ausgeführte Untersuchungen insoweit bestätigen zu können, als ich theilweise analoge Objecte untersuchte. Es wird diese erfreuliche Übereinstimmung vor der Zusammenstellung der wichtigeren Ergebnisse meiner Untersuchung ihren Ausdruck finden.

Überblicken wir die eben besprochenen Arbeiten von Altmann, Auerbach, Schottländer und Rosen, so fällt uns auf, dass die angewandten Tinctionsmethoden von keinem der genannten Autoren in ausführlicherer Weise mitgetheilt werden.

Es ist dieses Verfahren wohl dadurch zu erklären, dass man bestrebt ist, möglichst präcise Methoden der Doppelfärbung auszuarbeiten. Ich halte es nicht für überflüssig, sondern

---

[1] Ausgegeben am 29. März 1892.

[2] Eine ausführliche Publication im Heft 4 der Cohn'schen Beiträge wird in Aussicht gestellt.

[3] L. c. S. 8.

für nothwendig, gleich von vorneherein darauf hinzuweisen, dass bei Doppelfärbungen im Allgemeinen beständige Controle des Tinctionsgrades des Objectes von Nöthen ist.

Die Ehrlich-Biondi'sche Farbmischung ist noch am leichtesten zu handhaben, desgleichen auch Hämatoxylin-Eosin. Bei der folgeweisen Tinction mit den entsprechenden Farbstoffen der beiden von Auerbach angeführten Reihen ist die Abtönung der Färbung durch Waschung mit Wasser oder Alkohol, wie es eben der specielle Fall erfordert, meist mühselig. Bei der nachfolgenden Beschreibung meiner Befunde habe ich immer die angewendeten Farbstofflösungen näher bezeichnet. Zur Abtönung der Tinction genügte oft ein kurzes Behandeln der Schnitte etc. am Objectträger mit absoluten Alkohol.

Wie ich bereits in einem früheren Abschnitte dieser Arbeit auseinandersetzte, wurden die nun zu besprechenden Objecte zunächst im lebenden Zustande und ohne Anwendung eines Beobachtungsmediums betrachtet, dann wurden meist vorsichtig mit Alkohol erhärtete, oder mit $1^0/_0$ Chromsäure oder Flemming'schem Gemisch fixirte, oder mit dem Pfitzer'schen Pikrin-Nigrosin fixirte und tingirte Objecte der gleichzeitigen, respective der successiven Doppelfärbung unterworfen.

Beobachtet wurde mit Seibert, System VI, Oc. I, ferner mit Zeiss, homog. Imm. $^1/_{12}$ (Apert. 1, 20) Comp. Oc. 4, bei ausgezogenem Tubus und unter Anwendung der Irisblende und des Abbe'schen Condensors.

Aus der Reihe meiner Beobachtungen seien im Nachfolgenden angeführt: *Allium Cepa, Elodea canadensis, Galanthus nivalis* und *Leucojum aestivum, Fritillaria imperialis, Lilium Martagon. Phajus grandifolius, Pteris serrulata, Spirogyra* sp., *Tradescantia guianensis, Tulipa praecox, Viscum album.*

**Allium Cepa.** Untersucht wurden nur die Zellkerne der Zwiebelschuppen, deren leicht abziehbare Epidermis günstige Objecte darstellt. Am lebenden Object ist ganz scharf die Körnchenstructur wahrzunehmen, denn die Kerne erscheinen durchaus körnig, selbst der Nucleolus [1] zeigt Andeutung von

[1] Ich sage im Folgenden immer nur der Nucleolus, gleichgiltig, ob ein oder mehrere Nucleoli in den betreffenden Kernen vorhanden sind.

Körnchenstructur. An der Peripherie des Kernes eine Schichte dichter gestellter Körnchen (Membran).

Gibt man die lebende Epidermis für ganz kurze Zeit in die Gram'sche Tinctionsflüssigkeit,[1] so werden die Zellkerne vieler Zellen unter Erhaltung ihrer Structur tingirt. Die mit Alkohol und Jodkalium abgetönten Präparate sind mit Vortheil in Glycerin zu beobachten. Der Kern zeigt sich zusammengesetzt aus dunkel-, schwach blauvioletten und farblosen Körnchen, die Kernmembran farblos. Auch der Nucleolus erscheint körnig und ist im Allgemeinen intensiver gefärbt, genaue Beobachtung lehrt, dass auch er eine Membran besitzt, die schwach blauviolett bis farblos erscheint. Dass die geschilderten Verhältnisse ursprünglich sind, davon kann man sich auch durch den Vergleich mit den Zerstörungs- und Veränderungserscheinungen in den verletzten Zellen desselben Präparates überzeugen. Daraus wird man auch erkennen, dass in den unverletzt gebliebenen Zellen das Protoplasma Netzstructur mit sehr schwach tingirten Körnerfäden zeigt.

Auf Schnitte und Epidermisstücke von sorgfältig mit Alkohol von steigendem Procentgehalt entwässerten und so fixirten Zwiebelschuppen liess ich zuerst eine wässerige Lösung von Methylenblau einwirken. Sobald die Kerne intensive Färbung zeigten, wurde mit wässeriger Lösung von Congoroth tingirt. Nach mehrstündiger Einwirkung resultirte eine Doppelfärbung. Die ausgewaschenen Schnitte wurden in Glycerin beobachtet. Es erschienen schliesslich in dichter Anordnung methylenblaue Körnchen und Nucleolen in dem im übrigen roth gefärbten Kerne. Das gleiche Bild erhielt ich nach folgeweiser Färbung mit Hämatoxylin (nach Grenacher) — Safranin und Methylenblau — Eosin. Hämatoxylin wandte ich auch in Combination

---

[1] Da die der bacteriologischen Färberei entlehnte Gram'sche Methode noch wenig zur Tinction des Zellkernes angewendet wird, sei unter Hinweis auf Frank Schwarz l. c. S. 84 angeführt, dass die Färbeflüssigkeit aus 3*g* Anilinöl, 1*g* Gentianaviolett, 15*g* Alkohol und 100*g* Aqua dest., die Entfärbungsflüssigkeit aus: 1 Theil Jod, 2 Theile Jodkalium und 300 Theilen Wasser besteht. Tinction in 3—5 Minuten, dann Abspülen mit absolutem Alkohol, hierauf 8—10 Minuten in die Jodlösung, Aufhellung in Nelkenöl, Einschluss in Balsam. Vortheilhaft bei Fixirung mit Flemming's Gemisch.

mit Pikrinsäure (alkoholische Lösung) an. Zur Abtönung der Färbung wurden Alkohol und Alaunwasser verwendet. Als Beobachtungsflüssigkeit diente Glycerin. Es zeigten sich dann gewissermassen in eine hellblaugrüne Grundmasse eingebettet zahlreiche dunkle Körnchen, die hellblaue Masse selbst erschien gekörnt. Hellblau erschien auch der Nucleolus.

Auch auf anderem Wege versuchte ich Doppelfärbungen. So wandte ich Pikrinnigrosin zur gleichzeitigen Fixirung und Tinction bei frischen Quer- oder Flächenschnitten der Zwiebelschuppen an. Nach genügend langer Einwirkung des Reagens, zwei bis mehrere Stunden, wurde zunächst mit Wasser abgespült, dann in Alkohol abgetönt. Den nun blau gefärbten Kernen wurde Pikrocarmin (nach Orth) zugeführt, nach Vollendung der Tinction wurde mit Alkohol gewaschen und nun entweder in Glycerin, oder nach vorhergehender successiver Entwässerung durch absoluten Alkohol und Aufhellung durch Nelkenöl oder Xylol, in Canadabalsam beobachtet. Auf den ersten Blick erschienen die Kerne lichtroth gefärbt, die Kernmembran trat nicht hervor. Zahlreiche kleine, blaue Körnchen in der ebenfalls körnigen rothen Grundsubstanz. Der Nucleolus war blau gefärbt. Bei dieser Doppelfärbung beobachtete ich auch in directer Theilung begriffene Kerne. Die schon von Johow [1] erwähnte hyaline Zone ist erythrophil.

**Elodea canadensis.** Von dieser Pflanze untersuchte ich Mikrotomschnitte durch den Vegetationspunkt des Stammes und die jüngeren Internodien. Fixirt wurde mit Sublimatalkohol. Weiters wurde die Paraffinmethode angewendet. Die Entfernung des Paraffins aus den aufgeklebten Schnitten wurde mittelst Terpentinöles vorgenommen. Der Einschluss in Canadabalsam erfolgte nach Aufhellung der mit Eosin am Objectträger gefärbten Schnitte mit Nelkenöl. Die Kernmembran blieb farblos, der Nucleolus fast ungefärbt, die übrige Masse des Kernes erschien roth und körnig.

**Galanthus nivalis** und **Leucojum aestivum** zeigten die Körnchenstructur des Kernes in ganz gleicher Weise, beide

[1] Johow, Untersuchungen über die Zellkerne in den Secretbehältern und Parenchymzellen der höheren Monocotylen. Inaug.-Dissertation. Bonn 1880.

besitzen deutliche Kernmembran und ansehnlichen Nucleolus. Vorsichtig erhärtetes Alkoholmaterial, Epidermis des Laubblattes und der Zwiebelschuppen wurde mit Hämatoxylin-Eosin tingirt. Nach Abtönung der Färbung durch Alkohol, Einschluss in Glycerin-Gelatine. Bei guter Abblendung erkennt man schon bei Zeiss homog. Im. $^1/_{12}$ und Oc. 4 in eine röthliche Grundsubstanz eingebettete blaue Körnchen, auch der Nucleolus erscheint blau bis violett und körnig, die röthliche Grundsubstanz des Kernes erweist sich bei Betrachtung mit Zeiss homog. Im. und Oc. 8 als ein mehr oder minder deutlich körniges Gerüst, in dessen Maschen die blauen Körnchen liegen. Bei der schwächeren Vergrösserung erhält man zuerst den Eindruck, als ob eine zarte, blau tingirte Kernmembran vorhanden wäre, bei der stärkeren Vergrösserung erkennt man aber, dass die Kernmembran farblos und körnig ist. Was als blau tingirte Membran erschien, erweist sich als eine periphere, unmittelbar an die achromatische Membran angelagerte Schichte dichter gestellter cyanophiler Körnchen.

**Fritillaria imperialis.** Zur Untersuchung gelangte die mit dem Scalpell abgezogene Blattepidermis sammt dem partienweise daran haftenden Chlorophyllparenchym. Nachdem durch Beobachtung des lebenden Materiales festgestellt worden war, dass der Zellkern körnig sei, wurde eine Färbung mit Cyanin versucht. Ich übertrug zu diesem Zwecke die frische Blattepidermis mit dem daranhaftenden Chlorophyllparenchym unmittelbar in eine concentrirte Lösung von Cyanin in circa 75$^0/_0$ Alkohol, wo ich sie mehrere (3) Tage lang beliess. Dann spülte ich mit Alkohol ab und tönte die Färbung durch absoluten Alkohol. Als Beobachtungsflüssigkeit wählte ich Glycerin. Der ganze Zellkern erscheint fein blau punktirt, die blauen Körnchen in eine farblose Grundmasse von mehr oder minder deutlich körniger Beschaffenheit eingebettet. Nucleolus deutlich und blau, an ihm keine Membran zu constatiren. Die Kernmembran selbst farblos und gekörnelt.

Mit Cyanin auf die eben beschriebene Weise tingirte Schnitte behandelte ich behufs successiver Doppelfärbung mit Pikrocarmin. Abtönung durch Alkohol, dann Entwässerung

durch absoluten Alkohol, Aufhellung mit Xylol, Einschluss in Damarharz. Zellkerne mit schwach röthlich gefärbter bis farbloser Kernmembran. Im Innern feine blaue und theils intensiver, theils schwächer roth tingirte Körnchen.

Auch im Flemming'schen Gemisch fixirte Flächenschnitte zog ich in Beobachtung, nachdem ich sie in Alkohol gehärtet und mit der Gram'schen Flüssigkeit gefärbt hatte. Nach der Tinction gewähren die Kerne nicht durchaus denselben Anblick bezüglich der Anordnung der chromatischen Substanz. Die einen erscheinen mit achromatischer Membran und einem achromatischen Gerüst, in dessen zahlreichen Maschen sich kleine blauviolett tingirte Körnchen befinden. Der Nucleolus ist von derselben Farbe; Kernmembran und achromatisches Gerüst erscheinen undeutlich körnig; die anderen weisen die tingirbare Substanz zu grösseren Ballen zusammengeflossen auf. Dieses Verhalten ist wohl, wenigstens theilweise, einer zerstörenden Einwirkung des Flemming'schen Gemisches zuzuschreiben. Zellen, deren Kern das letzterwähnte Verhalten zeigten, besassen niemals das conservirte Netzgerüst des Cytoplasmas, welches in den anderen Zellen wenigstens theilweise erhalten war. Nebenbei sei erwähnt, dass sich auch das cytoplasmatische Netzgerüst aus, nach der Gram'schen Methode in geringem Masse tingirbaren, Körnchen zusammensetzt.

**Lilium Martogon.** Zu Doppelfärbungen wurde entsprechend behandeltes Alkoholmaterial, Epidermis des Blattes verwendet.

*a)* Färbung mit Pikrocarmin und Hämatoxylin. Aufhellung durch Nelkenöl, Einschluss in Chloroform-Canadabalsam. Kernmembran deutlich körnig und schwach roth tingirt, das Kerninnere rothgefärbt mit dunkelblauen feinen Körnchen, auch die rothtingirte Substanz körnig. Vor der schwachrothen Membran eine periphere cyanophile Körnchenreihe kleinerer Elemente.

*b)* Tinction mit Ehrlich-Biondi'scher Mischung durch kurze Zeit. Abtönung in Alkohol bis das Präparet makroskopisch grün erscheint. Einschlussmedium Kanadabalsam. Der ganze Kern erscheint grün und körnig, auch seine Membran, sehr zahlreiche dunkle, kleine Körnchen (einzelne grössere) erscheinen eingelagert. Die Kernmembran schwächer grün gefärbt als das Kerninnere.

**Phajus grandifolius.** Es wurden die Kerne des knolligen Stammes und die der Blattepidermis betrachtet. Sie zeigen das gleiche Verhalten. Die *Phajus*-Kerne sind ziemlich derbwandig und zeigen im lebenden Zustande Körnchen in der Peripherie, weitmaschiges Gerüst im Innern, in dieses eingebettet Nucleolen und auch grosse Chromatinkörner. Nach Fixirung mit Flemming'schem Gemisch ist dieses Bild ungeändert und durch die Tinction nach Gram'scher Methode treten die angeführten Verhältnisse noch deutlicher hervor. Es gibt, wie man durch Betrachtung einer grösseren Anzahl von Schnitten am frischen und fixirten Materiale erkennt, auch nicht wenig Kerne, bei welchen das chromatische Gerüst mit den eingelagerten Chromatinkörnern im Kerninnern sehr engmaschig ist. Dann erscheint sowohl Membran wie Kerngerüst körnig. Am Mascheninhalt, d. i. am »Kernsaft« konnte ich keine Structur beobachten. Der Nucleolus schien mir in einzelnen Fällen gekörnt zu sein. Pikrin-Nigrosin-Präparate weisen dieselben Erscheinungen auf. An nach Gram tingirten und dann mit Pikrocarmin behandelten Präparaten sind die Gerüstsubstanz und Kernmembran deutlich roth, der »Kernsaft« schwach roth gefärbt.

**Spirogyra crassa.** Kern im lebenden Zustande mit grossem Nucleolus und deutlicher Kernwand. In die Grundsubstanz zahlreiche Körnchen eingebettet. An Pikrin-Nigrosin-Präparaten erscheint die Kernmembran tingirt, das Kerninnere von zahlreichen tingirten Körnchen erfüllt, welche in die Maschen eines ungefärbten Netzes eingebettet erscheinen. Beim Nucleolus konnte ich wiederholt eine tingirbare Membran und feinkörniges Innere beobachten.

**Pteris serrulata.** Die Kerne des lebenden Prothalliums feinkörnig, mit deutlichem Nucleolus und Membran. Dasselbe Bild nach Fixirung und Tinction in Pikrin-Nigrosin; im Zellkerne erscheinen feine blaue Körnchen, der Nucleolus und auch die Kernmembran blau tingirt. Das untersuchte Prothallium besass Antheridien, die Köpfe der Spermatozoiden gleichfalls blau. Nach Doppelfärbung mit Pikrinnigrosin-Pikrocarmin, folgeweise angewendet, zeigt sich der Zellkern aus feinen rothen und blauen Körnchen zusammengesetzt, die Köpfe der Spermatozoiden sind blau geblieben.

**Tradescantia guianensis.** Untersucht wurden die Zellkerne der ausgewachsenen Staubfadenhaare. Schon Altmann[1] hat die körnige Structur der Zellkerne von *Tradescantia* erkannt. Im Gegensatze zu Frommann,[2] welcher sagt, dass das Innere des *Tradescantia*-Kernes aus Netzen bestehe, deren Fäden bald mehr, bald weniger scharf gezeichnet und mitunter so regelmässig zur Bildung paralleler Reihen quadratischer oder rundlicher, gleichgrosser Maschen verbunden seien, dass solche Netzabschnitte an der Oberfläche wie im Innern des Kernes in Form eines äusserst zierlichen, regelmässigen Gitterwerkes vortreten; findet Altmann,[3] es sei das genannte Object »ausgezeichnet, um die Granulastructur des Kernes zu demonstriren«.[4] Schon die Tinction des frischen Materiales mit alkoholischer Lösung von Cyanin oder Gallocyanin (tagelange Einwirkung) lehrt, dass sich im Kerninneren sehr zahlreiche tingirbare Körnchen vorfinden. Sie liegen gewissermassen in den Maschen eines zarten, nur sehr schwach tingirten Netzes, welches mir bei Zeiss homog. Im. $^1/_{12}$, Comp. Oc. 8, unter Anwendung von Abbe'schem Condensor und Irisblende feinkörnig erschien. Die Kernmembran erschien mir ungekörnt.

**Tulipa praecox.** Epidermisstücke des Blüthenschaftes oder vom Laubblatte mit anhaftenden Parenchymzellen wurden mit Pikrin-Nigrosin fixirt und tingirt, dann mit wässeriger Fuchsinlösung behandelt. Die Abtönung der Färbung erfolgte in starkem Alkohol, worauf die Objecte behufs der Beobachtung nnch Passirung von absolutem Alkohol und Nelkenöl in Canadabalsam kamen. Nach dieser Behandlung erscheinen die Kerne durchaus aus blauen und rothen Körnchen zusammengesetzt, der Nucleolus blau, die Kernmembran zart und ungefärbt. Die Kerne der Spaltöffnungen besitzen vielmehr erythrophile Körnchen, als die Kerne der übrigen Epidermiszellen.

---

[1] Richard Altmann, »Zur Geschichte der Zelltheorien«. Leipzig 1889.

[2] C. Frommann, Beobachtungen über Structur und Bewegungserscheinungen des Protoplasma der Pflanzenzellen. Jena 1880. S. 48.

[3] Altmann l. c. S. 18.

[4] Altmann scheint durch die Betrachtung des lebenden Objectes zu dieser Anschauung gelangt zu sein.

Ein anderes Bild gewähren die Kerne von *Tulipa* nach der Tinction mit Cyaninlösung (in $84^0/_0$ Alkohol). Nach mehrtägiger Behandlung mit der genannten Farbstofflösung wurden die Schnitte mit hochprocentigem Alkohol abgespült, mit absolutem entwässert, mit Nelkenöl aufgehellt und in Chloroform-Canadabalsam eingetragen. Die Zellkerne zeigten dann zahlreiche blaugefärbte, kleine Körnchen, die Membran erschien farblos, um den Nucleolus zeigte sich ein farbloser Hof. Bezüglich der Kernmembran wäre zu bemerken, dass sie eine blaugefärbte äussere und eine ungefärbte Schichte erkennen liess, zudem erschien sie mir deutlich körnig. Körnig erschien auch die von Cyanin ungefärbte Masse des Kerninneren. Der Nucleolus verhielt sich dem Cyanin gegenüber nicht in allen Fällen gleich, insoferne als er in einzelnen Fällen in seinem Inneren eine farblose Zone erkennen liess.

Bezüglich des Zellkernes von *Tulipa* möchte ich aus meinen Aufzeichnungen auch sein Verhalten bei Präparation in $1^0/_0$ Salicylaldehyd anführen. Die frisch abgezogene Epidermis wurde in Salicylaldehyd am Objectträger gebracht und mit Seibert, Object VI, Oc. I, betrachtet. Man erkennt dann die Kernmembran als eine periphere Schichte dicht aneinandergereihter, vom gleichfalls körnigen Kerninneren, optisch scharf abgegrenzten Körnchen. Die das Kerninnere erfüllenden Körnchen sind stellenweise, wie die Beobachtung lehrt, zu kurzen Fäden vereinigt. Weniger scharf differenzirt ist der Nucleolus, ob auch er aus Körnchen besteht, muss ich dahingestellt sein lassen.[1]

**Viscum album.** Zarte Querschnitte durch einjährige Triebe wurden in Alkohol vorsichtig gehärtet und hierauf in Ehrlich-

---

[1] Wenigstens in Form dieser Anmerkung möchte ich darauf hinweisen, dass sich das Protoplasma in den Epidermiszellen von *Tulipa* als ein Netzgerüst darstellt, dessen Stränge sich aus Körnchen zusammensetzen. Salicylaldehyd fixirt dieses Structurverhältniss, an dessen Realität ich umsoweniger zweifeln kann, als ich es auch am lebenden Objecte beobachten konnte. Allerdings ist es nicht in allen Zellen gleich gut erhalten; aber wo das Netzgerüst nicht deutlich hervortritt, sieht man in mehr oder minder regelmässiger Anordnung Körnchen. Auch ist hervorzuheben, dass die Maschen des protoplasmatischen Netzgerüstes im optischen Durchschnitt polygonal (nicht rund) erscheinen.

Biondi'sche Dreifarblösung [1] gebracht, in welcher sie mehrere Stunden verblieben. Die Schnitte wurden hierauf mit Wasser abgespült und durch Alkohol abgetönt (24—48$^h$). Die Beobachtung erfolgte nach Einschluss in Glycerin-Gelatine. Es erschienen dann die Kerne aus schwarzblauen Körnchen und zwischen diesen liegender roth gefärbter Substanz zusammengesetzt. Die schwarzblau tingirten Körnchen sind ziemlich gross. Der Nucleolus erschien schwarzblau und von einem roth gefärbten Hof umgeben, an manchen Kernen aber auch in schwarzblaue und rothe Körnchen differenzirt. Die Kernmembran stellte sich nach ihrem Verhalten gegen das Farbgemisch als zweischichtig dar: eine innere, deutlich dicht körnige cyanophile, und eine äussere röthlich gefärbte Schichte.

Schliesslich sei noch erwähnt, dass analoge Structur und Farbstoffspeicherungsverhältnisse, wie die auf den vorhergehenden Blättern beschriebenen, auch an den Kernen von *Phaseolus multiflorus* und *Vicia Faba* verhältnissmässig leicht zu beobachten sind.

Mit Rücksicht auf die Angaben Rosen's [2] mögen hier auch meine wenigen Beobachtungen über die Chromatophilie der Zellkerne von Pollenkörnern angeführt werden. An den reifen Pollenkörnern von *Convallaria majalis* beobachtete ich, nachdem ich sie am Objectträger in einem Tropfen Alkohol unter Deckglas zerdrückt und durch etwa zwei Stunden der Einwirkung des Alkohols ausgesetzt hatte, blaue und roth gefärbte Kerne, als ich das Ehrlich-Biondi'sche Farbstoffgemisch etwa eine Stunde einwirken liess und dann entsprechend lange mit Alkohol auswusch. Bei der geringen morphologischen Differenz zwischen dem generativen und dem vegetativen Zellkern von *Convallaria* war nicht ohne weiters zu entscheiden, welcher der beiden Kerne der cyano-, respective der erythrophyle sei. Dies konnte aber bei den Zellkernen des *Clivia*-Pollens entschieden werden, da hier die beiden Kerne morphologisch leicht unterscheidbar sind. Hier konnte nach demselben Tinctionsverfahren, wie bei *Convallaria*, der generative Kern als cyanophil erkannt werden.

---

[1] Bezogen von Dr. Grübler in Leipzig.

[2] Rosen l. c., siehe S. 13 dieser Abhandlung.

Die eben dargelegten Beobachtungen wurden nur gelegentlich gemacht. Ich führe sie hier nicht nur an, weil sie im Einklange mit den Beobachtungen Rosen's stehen, sondern auch, um der Methode willen, die freilich sehr umständlich ist. Hoffentlich ist es dem letztgenannten Autor geglückt, eine einfachere Tinctionsmethode ausfindig zu machen.

---

Um nun die Ergebnisse meiner Untersuchungen zusammenzufassen, möchte ich zunächst nochmals hervorheben, dass es sich mir in erster Linie um die Feststellung von Structurverhältnissen des ruhenden Zellkernes handelte, in weiterer Linie erst um seine chromatophilen Eigenschaften.

Die Tinctionsversuche wurden vor allem aus dem Grunde herangezogen, um die Realität der am lebenden und am fixirten Objecte beobachteten Structur (Körnchen) zu erweisen.

Aus der ganzen Reihe der mitgetheilten Beobachtungen geht zum mindesten hervor, dass es im Gewächsreich »ruhende Zellkerne« gibt, welche sich aus körnigen Elementen aufbauen. Diese Zellkerne erscheinen schon in der lebenden Zelle deutlich körnig. Die Körnchen selbst sind tingirbar. In allen zur Beobachtung gelangten Fällen waren die Körnchen isolirt, höchstens stellenweise zu kurzen Fäden vereinigt. Am leichtesten wahrnehmbar sind die Körnchen im Kerninneren, schwieriger in der Kernmembran und im Nucleolus; in den beiden letzteren Organen des Zellkernes wurde auch nicht in allen Fällen eine Differenzirung in Körnchen beobachtet. Der »Kernsaft« tritt nur in jenen ruhenden Zellkernen hervor, welche, wie gewisse Zellkerne von *Phajus*, thatsächlich ein weitmaschiges, tingirbares Gerüstwerk besitzen. Die dem »Kernsaft« angehörigen Körnchen sind mindestens durch die Tinction mit Cyanin anschaulich zu machen.

Bei Doppelfärbung (in successiver Anwendung oder als Farbstoffgemisch) speichern die Körnchen in der Regel nicht die Mischfarbe, sondern einen der beiden Farbstoffe, so dass erythrophile und cyanophile Körnchen (im Sinne Auerbach's) zu unterscheiden waren. Ich möchte hier einfach die Beobachtung als solche hinstellen, ohne daraus irgend welche

Folgerungen bezüglich der Art der stofflichen Verschiedenheit ziehen zu wollen.

Der Nucleolus erwies sich an den von mir beobachteten Objecten als cyanophil, respective, wenn er Differenzirung in Körnchen zeigte, so konnten cyanophile und erythrophile Körnchen unterschieden werden.

Die Kernmembran konnte in zwei Fällen ihrem Verhalten gegen Farbstoffe nach als zweischichtig erkannt werden.

Das Vorhandensein von erythrophiler und cyanophiler Substanz im Zellkern tritt auch im Verlaufe der Kerntheilung deutlich zu Tage. Ich verweise diesbezüglich auch auf die Angaben von Zimmermann[1] in seiner eben erschienenen »Mikrotechnik«.

Schliesslich möchte ich noch bemerken, dass die von mir im ruhenden Zellkern beobachteten Körnchen theilweise jedenfalls mit den Chromatinkörnchen Pfitzner's identisch sein müssen. Ich habe sie einfach als »Körnchen« bezeichnet, um einen indifferenten Ausdruck zu gewinnen. Als Plasomen[2] durfte ich sie nicht bezeichnen, obwohl dies naheliegend gewesen wäre, da ich über die vitalen Eigenschaften der in Rede stehenden Körnchen nichts auszusagen weiss.

---

[1] A. Zimmermann, Die botanische Mikrotechnik. Tübingen 1892. S. 181, 188.

[2] Wiesner, Elementarstructur, S. 181.